

PTO 06-2911

CY=JA DATE=20011204 KIND=A
PN=13-335485

ELONGATION INHIBITOR FOR MELANOCYTE DENDRITE
AND COSMETIC CONTAINING THE SAME
[Meranosaito no dendoraito no shinchogyokuseizai
oyobi sore wo ganyu suru keshoryo]

Yuko Saito et al.

UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE
Washington, D.C. March 2006

Translated by: FLS, Inc.

PUBLICATION COUNTRY (19) : JP

DOCUMENT NUMBER (11) : 2001-335485

DOCUMENT KIND (12) : A
(13) :

PUBLICATION DATE (43) : 20011204

PUBLICATION DATE (45) :

APPLICATION NUMBER (21) : 2000-161777

APPLICATION DATE (22) : 20000531

ADDITION TO (61) :

INTERNATIONAL CLASSIFICATION (51) : A61K 31/4741, 7/00, 7/48; A61P
17/16, 43/00; //C07D 455/03

DOMESTIC CLASSIFICATION (52) :

PRIORITY COUNTRY (33) :

PRIORITY DATE (32) :

PRIORITY NUMBER (31) :

INVENTORS (72) : SAITO, YUKO; OTA, YUTAKA;
SUZUKI, SATOSHI

APPLICANT (71) : POLA CHEM IND INC

TITLE (54) : ELONGATION INHIBITOR FOR
MELANOCYTE DENDRITE AND COSMETIC
CONTAINING THE SAME

FOREIGN TITLE [54A] : MERANOSAITO NO DENDORAITO NO
SHINCHOGYOKUSEIZAI OYABI SORE WO
GANYU SURU KESHORYO

[Claims]

[Claim 1] An elongation inhibitor for melanocyte dendrites comprising berberine, a berberine derivative and/or a physiologically acceptable salt thereof.

[Claim 2] The elongation inhibitor for melanocyte dendrites described in Claim 1, wherein the elongation inhibitor inhibits the macrophage-derived dendrite elongation promoting factor.

[Claim 3] A topical preparation for skin, wherein the topical preparation contains the melanocyte elongation inhibitor described in Claim 1 or Claim 2, and wherein the topical preparation treats a skin phenomenon promoted by melanocytes and macrophages.

[Claim 4] The topical preparation for skin described in Claim 3 for treating a skin phenomenon promoted by melanocytes and macrophages, wherein the topical preparation is a cosmetic.

[Claim 5] The topical preparation for skin treating the skin phenomenon promoted by melanocytes and macrophages described in Claim 3 or Claim 4, wherein the skin phenomenon promoted by melanocytes and macrophages is age spots or a darkening of the skin caused by light on account of an inflammation.

[Claim 6] A whitening cosmetic comprising berberine and/or a physiologically acceptable salt thereof.

[Detailed Description of the Invention]

[0001] [Industrial Field of Application]

The present invention relates to a melanocyte dendrite elongation inhibitor and a cosmetic. The present invention relates more

specifically to a topical preparation for skin that is effective against skin phenomena caused by melanocytes and macrophages due to the inhibition of the interaction between the melanocytes and macrophages by the melanocyte dendrite elongation inhibitor.

[0002] [Prior Art]

Melanocytes are known to play a major role in the life of pigmentation in animals. The pigment melanine is produced by melanocytes and travels somehow through epidermal cells. The details are not yet well understood, but the movement of melanine granules is known to be caused at least to some extent by macrophages. This is because macrophages produce dendrite elongation factor (DEF) for melanocytes. Tests have been performed on inhibiting the movement of the elongation factor. This inhibition also inhibits the elongation of melanocyte dendrites, and the inhibition of dendrite elongation inhibits the movement of melanine granules, which prevents the darkening of skin. Berberine, berberine derivatives and/or pharmacologically acceptable salts thereof are not known at all to inhibit the elongation of melanocytes.

[0003] The result of preventing dyschromia, which is caused by abnormal production of melanine granules by melanocytes as people grow older, would be beautiful white skin. Many efforts have been made and many results have been obtained. Many mechanisms have also been obtained, but none of them focus on inhibiting the elongation of melanocyte dendrites. This mechanism is not known at all as an effective means of preventing or ameliorating dyschromia caused by

light exposure or infections. The effect of melamine inhibitors such as ascorbic acid on dyschromia caused by infections and dyschromia such as age spots is well known, and the development of preventive or ameliorative means against dyschromia is desired.

[0004] Berberine, berberine derivatives and pharmacologically acceptable salts thereof are already known for their antibacterial and antiviral effects. However, they are not known at all to inhibit the elongation of dendrites in melanocytes. Therefore, it is not known as a means of effectively inhibiting the elongation of dendrites in melanocytes to prevent or ameliorate dyschromia caused by light exposure or injections through the topical application of a cosmetic on the skin.

[0005] [Problem Solved by the Invention]

In light of this situation, the purpose of the present invention is to provide an effective means of preventing or improving dyschromia resulting from an inflammation or dyschromia such as age spots.

[0006] [Means of Solving the Problem]

In light of this situation, the present inventors sought to discover an effective preventative or ameliorative means against dyschromia such as age spots caused by injections or light exposure. As a result of extensive research, they discovered that berberine, berberine derivatives and pharmacologically acceptable salts thereof have a superior inhibitory effect on the elongation of melanocyte dendrites. They also discovered that topical preparations for skin containing berberine, berberine derivatives and/or pharmacologically

acceptable salts thereof have a preventative or ameliorative effect on dyschromia such as age spots due to exposure to light or injection. The present invention is a product of these discoveries. The present invention relates to the following technologies.

- (1) An elongation inhibitor for melanocyte dendrites comprising berberine, a berberine derivative and/or a physiologically acceptable salt thereof.
- (2) The elongation inhibitor for melanocyte dendrites described in (1), wherein the elongation inhibitor inhibits the macrophage-derived dendrite elongation promoting factor.
- (3) A topical preparation for skin, wherein the topical preparation contains the melanocyte elongation inhibitor described in (1) or (2), and wherein the topical preparation treats a skin phenomenon promoted by melanocytes and macrophages.
- (4) The topical preparation for skin described in (3) for treating a skin phenomenon promoted by melanocytes and macrophages, wherein the topical preparation is a cosmetic.
- (5) The topical preparation for skin treating the skin phenomenon promoted by melanocytes and macrophages described in (3) or (4), wherein the skin phenomenon promoted by melanocytes and macrophages is age spots or a darkening of the skin caused by light on account of an inflammation.
- (6) A whitening cosmetic comprising berberine and/or a physiologically acceptable salt thereof.

[0007] [Embodiment of the Invention]

(1) Melanocyte Dendrite Elongation Inhibitors of the Present Invention

The melanocyte dendrite elongation inhibitors of the present invention are berberine, berberine derivatives and/or pharmacologically acceptable salts thereof. The berberine, berberine derivatives and/or pharmacologically acceptable salts thereof can be used without alteration. There are no restrictions on the type of salt used provided they are pharmacologically acceptable. Examples include salts of alkali metal such as sodium and potassium, salts of alkali earth metals such as calcium and magnesium, ammonium salts, organic amine salts such as triethanol amine and triethyl amine, and basic amino acid salts such as lysine and arginine. The berberine derivatives can be any commercially available derivative used in medicines such as berberine, berberine tannate, berberine sulfate and berberine chloride. Any one of these can be used as the melanocyte dendrite elongation inhibitor of the present invention. Any berberine, berberine derivatives and/or pharmacologically acceptable salts thereof can be used as the melanocyte dendrite elongation inhibitor of the present invention to superior effect. These melanocyte dendrite elongation inhibitors of the present invention can be used alone or in combinations of two or more. The amount of melanocyte dendrite elongation inhibitor of the present invention added should be 0.001 to 10 wt%, preferably 0.01 to 5 wt%. The melanocyte dendrite elongation inhibitor of the present invention ideally should be a berberine derivative such as berberine, berberine tannate, berberine sulfate and

berberine chloride. The melanocyte dendrite elongation inhibitor of the present invention has a superior inhibitory effect on melanocyte dendrite elongation by inhibiting the movement of melamine granules in skin tissue by the melanocyte. It has a preventative or ameliorative effect on darkening caused by exposure to sunlight and dyschromia such as age spots due to the melamine granule movement mechanism. Berberine desmethyls, glycosides of berberine desmethyls and their salts have a similar effect. These are included among the derivatives and pharmacologically acceptable salts of the present invention. The effect is the result of simply inhibiting the movement of the melanocyte dendrite elongation factor discharged from the macrophages in the melanocytes. Because dyschromia is caused by the production of melamine granules via this route, the melanocyte dendrite elongation inhibitors of the present invention inhibit darkening due to infections and sunlight exposure as well as dyschromia such as age spots. Because other means may have a preventative or ameliorative effect on dyschromia, the special characteristics of the effect of the present invention are said to be darkening caused by infection due to sunlight exposure and dyschromia such as age spots. To the extent that wrinkles and age spots are caused by the coordinated activity of melanocytes and macrophages, the berberine and/or berberine salts act effectively against them and cosmetics containing berberine can be used as whitening cosmetics.

[0008] (2) Topical Preparations For Skin of the Present Invention Used Against Skin Phenomena Caused by Melanocytes and Macrophages

The melanocyte dendrite elongation inhibitor of the present invention inhibits the movement of the melanocyte dendrite elongation factor discharged by macrophages in the melanocytes. As a result, it can inhibit the life phenomena caused by the coordinated activity of melanocytes and macrophages. These melanocyte dendrite elongation inhibitors, when contained in a topical application for skin, can address skin phenomena caused by melanocytes and macrophages. In other words, the skin phenomena caused by melanocytes and macrophages are addressed by the topical application for skin in the present invention because of the melanocyte dendrite elongation inhibitor of the present invention that it contains. Here, the topical application for skin in the present invention generally refers to a composition applied to the skin. It can be a topical medicine containing an adhesive or a cosmetic containing a cleanser. Among these, cosmetics are preferred. The melanocyte dendrite elongation inhibitor of the present invention is highly stable and works gradually. The primary skin phenomena caused by melanocytes and macrophages are darkening caused by infections exposed to sunlight and dyschromia such as age spots. Others are caused by infection reactions. The amount of melanocyte dendrite elongation inhibitor added to the topical application for skin used to address skin phenomena caused by melanocytes and macrophages in the present invention should be 0.001 wt% to 10 wt%, and ideally 0.01 wt% to 5 wt%. If too little is added, the dendrite

inhibitory effect does not occur. If too much is added, the effect plateaus and some range of freedom in terms of prescription composition is lost.

[0009] The topical preparation for skin in the present invention for use against skin phenomena caused by melanocytes and macrophages can be any cosmetic or topical application. Components that can be added to these preparations include hydrocarbons such as squalane, vaseline and microcrystalline wax; esters such as jojoba oil, carnauba wax and octyldodecyloleate; triglycerides such as olive oil, beef tallow and palm oil; fatty acids such as stearic acid and oleic acid; higher alcohols such as oleyl alcohol, stearyl alcohol and octyldodecanol; anionic surfactants such as sulfosuccinic acid esters and polyoxyethylene alkyl sodium sulfate; amphoteric surfactants such as alkyl betaine salts; cationic surfactants such as dialkyl ammonium salts; non-ionic surfactants such as sorbitan aliphatic acid esters, aliphatic acid monoglycerides, polyoxyethylene adducts of these, polyoxyethylene alkyl ether and polyoxyethylene aliphatic acid esters; polyhydric alcohols such as polyethylene glycol, glycerin and 1,3-butanediol; viscosity enhancers; gelation agents; antioxidants; UV absorbers; pigments; preservatives; and powders. The topical preparation for skin in the present invention for use against skin phenomena caused by melanocytes and macrophages is especially effective against dyschromia caused by infections exposed to sunlight when combined with well-known anti-inflammatories such as prednisolone, hydrocortisone, indomethacin and sodium diclofenac.

Naturally, the effect is increased synergistically when combined with well-known melamine production inhibitors such as ascorbic acid and hydroquinones such as arbutin.

[0010] [Working Examples]

The following is a more detailed explanation of the present invention with reference to working examples. The present invention is by no means limited to these working examples.

[0011] (Working Example 1)

The dendrite elongation inhibitory effect was examined using the melanocyte dendrite elongation inhibitor in Working Example 1. In the preparatory measures, macrophages were extracted from the abdomen of mice, and diluted with an Eagle's minimum medium containing 10% FBS to adjust the macrophage concentration to 2×10^6 cells/ml. Next, 90 μ l was added to a 35 mm petri dish and exposed to 0.05 mW/cm² of UV light for 20 minutes. The berberine derivatives serving as the melanocyte dendrite elongation inhibitor was berberine, berberine tannate, berberine sulfate and berberine chloride dissolved in 1,3-buteneglycol to 0.001%. The epidermis on mice tails was finely removed and placed in 0.5% trypsin inside a petri dish at 37°C overnight. Using tweezers, the epidermis was separated from the dermis and only the epidermis was removed. This was placed in 0.5% trypsin for another 20 minutes at 37°C. This was then passed through a filter to collect only the melanocytes in the filtrate. The filtrate containing the melanocytes was added to an Eagle's minimum medium containing 10% FBS, 10-4 M IBMX and 10 ng/ml TPA for cultivation at 37°C for 48 hours. This was

suspended in the same medium and 96 wells were filled with 1000 cells per well for cultivation overnight at 37°C. The melanocytes were removed from the medium and rinsed three times in PBS. They were then placed in an Eagle's minimum medium with 10% FBS. 35 µl of macrophage medium supernatant containing the test substance was added to each well, and cultivated for two nights at 37°C. Photographs were taken using an optical microscope, and the dendrites in the photographs were measured. The results are shown in Table 1. All of the berberine derivatives serving as the melanocyte dendrite elongation inhibitor in the present invention (berberine, berberine tannate, berberine sulfate and berberine chloride) had a superior dendrite elongation inhibitory effect.

(Test Substances)

- 1) Melanocyte Dendrite Elongation Inhibitor (0.001%) Berberine
- 2) Melanocyte Dendrite Elongation Inhibitor (0.001%) Berberine Tannate
- 3) Melanocyte Dendrite Elongation Inhibitor (0.001%) Berberine Sulfate
- 4) Melanocyte Dendrite Elongation Inhibitor (0.001%) Berberine Chloride
- 5) 1,3-Butyleneglycol (Positive Control)
- 6) No Macrophage Supernatant Added (Negative Control)

[0012] [Table 1]

Test Substance	Dendrite Length (μM)
Berberine	12.84
Berberine Tannate	15.26
Berberine Sulfate	13.48
Berberine Chloride	14.25
Negative Control	9.75
Positive Control	36.26

[0013] (Working Example 2)

A skin lotion was prepared using the following prescription. The components were stirred and solubilized at room temperature to obtain a skin lotion. This skin lotion was applied twice daily for an hour in the morning and at night to groups of three people suffering from wrinkles and age spots. The preventative or ameliorative effects on the wrinkles and age spots were then evaluated. The standard of evaluation was 2 for a significant improvement, 1 for a clear improvement, 0.5 for some improvement, and 0 for no improvement. The average result was 0.79. A skin lotion of the present invention containing Nardostachys jatamansi (Spikenard) which has an elongation inhibitory effect on melanocyte dendrites clearly has an ameliorative effect on wrinkles and age spots.

Berberine	1 ppw
1,3-Butanediol	5 ppw
Glycerin	3 ppw
Sodium Citrate	0.1 ppw
Methylparaben	0.2 ppw
Ethanol	8 ppw
Water	82.7 ppw

[0014] (Working Example 3)

A topical medical composition for skin was prepared using the following prescription. The components were stirred and dispersed to obtain the skin topical. It was very effective against dyschromia resulting from an inflammation and age spots.

Berberine	0.5	ppw
Prednisolone	1	ppw
Vaseline	85	ppw

[0015] (Working Example 4)

A cream was prepared using the following prescription. A, B and C were heated to 80°C and dissolved. B was added gradually to A, and then C was added and emulsified. The emulsion particles were homogenized using a homogenizer, and the emulsion was cooled to obtain a cream. This cream was very effective against blemishes caused by inflammations.

[0016]

A)

Squalane	10	ppw
Cetanol	3	ppw
Sorbitan Sesquistearate	2	ppw
Polyoxyethylene (20) Behenylether	2	ppw
Vitamin A Acid	1	ppw

B)

1,3-Butanediol	5	ppw
Berberine	1	ppw
Carboxyvinyl Polymer	0.3	ppw
Water	40	ppw

C)

Water	37.3	ppw
Potassium Hydroxide	0.2	ppw

[0017] [Effect of the Invention]

The present invention provides an effective means of preventing or improving dyschromia resulting from an inflammation or dyschromia such as age spots.

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2001-335485

(P2001-335485A)

(43)公開日 平成13年12月4日 (2001.12.4)

(51)Int.Cl'	識別記号	F I	テマコード(参考)
A 61 K 31/4741		A 61 K 31/4741	4 C 0 6 4
7/00		7/00	X 4 C 0 8 3
7/48		7/48	4 C 0 8 6
A 61 P 17/16		A 61 P 17/16	
43/00	1 1 1	43/00	1 1 1
	審査請求 未請求 請求項の数 6 OL (全 5 頁) 最終頁に続く		

(21)出願番号 特願2000-161777(P2000-161777)

(71)出願人 000113470

ボーラ化成工業株式会社

静岡県静岡市弥生町6番48号

(22)出願日 平成12年5月31日 (2000.5.31)

(72)発明者 斎藤 優子

神奈川県横浜市戸塚区柏尾町560 ボーラ

戸塚研究所内

(72)発明者 太田 豊

神奈川県横浜市戸塚区柏尾町560 ボーラ

戸塚研究所内

(72)発明者 鈴木 聰

神奈川県横浜市戸塚区柏尾町560 ボーラ

戸塚研究所内

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 メラノサイトのデンドライトの伸長抑制剤及びそれを含有する化粧料

(57)【要約】

【課題】炎症を伴った色素異常やソバカスなどの色素異常に対して有効な予防或いは改善手段を提供することを課題とする。

【解決手段】メラノサイトのデンドライドの伸長の抑制作用を有するのに優れたベルベリン、ベルベリン誘導体及び/または生理的に許容されるそれらの塩を化粧料などの皮膚外用剤へ含有させる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ベルベリン、ベルベリン誘導体又は生理的に許容されるそれらの塩からなることを特徴とする、メラノサイトのデンドライトの伸長抑制剤。

【請求項2】 デンドライトの伸長抑制が、マクロファージ由来のデンドライト伸長促進因子の抑制作用に起因することを特徴とする、請求項1に記載のメラノサイトの伸長抑制剤。

【請求項3】 請求項1又は2に記載のメラノサイトの伸長抑制剤を含有することを特徴とする、メラノサイトとマクロファージが関与する皮膚現象対応用の皮膚外用剤。

【請求項4】 化粧料であることを特徴とする、請求項3に記載のメラノサイトとマクロファージが関与する皮膚現象対応用の皮膚外用剤。

【請求項5】 メラノサイトとマクロファージが関与する皮膚現象が、光による炎症を伴った、皮膚の黒化現象或いはソバカスである、請求項3又は4に記載のメラノサイトとマクロファージが関与する皮膚現象対応用の皮膚外用剤。

【請求項6】 ベルベリン及び/又は生理的に許容されるその塩を含有することを特徴とする、美白用の化粧料。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、メラノサイトのデンドライト伸長抑制剤及び化粧料などの皮膚外用剤に関し、更に詳細には、メラノサイトのデンドライト伸長抑制剤により、メラノサイトとマクロファージの相互作用を抑制するのに好適な、メラノサイトとマクロファージが関与する皮膚現象対応用の皮膚外用剤に関する。

【0002】

【従来の技術】メラノサイトは動物において、色素に係わる生命現象の主役となっていることは既に知られていることであるが、かかる色素であるメラニンがメラノサイトで産生され、どの様な経緯で表皮細胞に移動していくかについては、未だ詳細には知られておらず、かかるメラニン顆粒の移動には、マクロファージが関与している場合が少なくないことが知られているにすぎない。かかるマクロファージの関与については、メラノサイトのデンドライトの伸長因子(DEF)を産生することにより為されていることが指摘されているが、この様な伸長因子の働きを抑制する試みや、抑制することによりメラノサイトのデンドライトの伸長を抑制すること、該デンドライトの伸長抑制により、メラニン顆粒の移動を抑制し、皮膚が黒化するのを防ぐ試みは全く為されていない。更に、ベルベリン、ベルベリン誘導体及び生理的に許容されるそれらの塩に、この様なメラノサイトの伸長抑制作用が有ることも全く知られていない。

【0003】他方、メラノサイトによって産生されるメ

ラニン顆粒の異常によって生じる色素異常の解決は、美しい白い肌を具現化するための人類永年の解決課題であり、この為、種々の努力が為され、多くの成果が得られており、そのメカニズムについても様々なものが得られているが、メラノサイトのデンドライトの伸長抑制に着目したものはなく、この様なメカニズムにより、光の関与する色素異常であって、炎症を伴う色素異常症の予防や改善などの対応に有用であることは全く知られていない。又、炎症を伴った色素異常やソバカスなどの色素異常に対して、従来良く知られているアスコルビン酸などのメラニン生成阻害剤の効果が今ひとつであり、この様な色素異常の予防或いは改善手段の開発が望まれていた。

【0004】更に、ベルベリン、ベルベリン誘導体及び生理的に許容されるそれらの塩は、抗菌及び抗ウイルス作用を有していることは既に知られていることであるが、このものがメラノサイトのデンドライト伸長を抑制する作用を有していることは全く知られておらず、従つて、このものを含有する化粧料などの皮膚外用剤がメラノサイトのデンドライト伸長を抑制し、以て、色素異常、取り分け、光が関与し、炎症を伴って起こる色素異常の予防と改善に有用であることは全く知られていないことであった。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、この様な状況下為されたものであり、炎症を伴った色素異常やソバカスなどの色素異常に対して有効な予防或いは改善手段を提供することを課題とする。

【0006】

【課題の解決手段】この様な状況に鑑みて、本発明者は、炎症を伴った色素異常やソバカスなどの色素異常に対して有効な予防或いは改善手段を求めて、鋭意研究を重ねた結果、ベルベリン、ベルベリン誘導体及び生理的に許容されるそれらの塩に侵れたメラノサイトのデンドライトの伸長抑制作用を見出し、かかる作用を有する物質を皮膚外用剤に含有させることにより、この様な皮膚外用剤により、炎症を伴った色素異常やソバカスなどの色素異常の予防・改善に有用であることを見出し、発明を完成させるに至った。即ち、本発明は次に示す技術に40 関するものである。

(1) ベルベリン、ベルベリン誘導体又は生理的に許容されるそれらの塩からなることを特徴とする、メラノサイトのデンドライトの伸長抑制剤。

(2) デンドライトの伸長抑制が、マクロファージ由来のデンドライト伸長促進因子の抑制作用に起因することを特徴とする、(1)に記載のメラノサイトの伸長抑制剤。

(3) (1)又は(2)に記載のメラノサイトの伸長抑制剤を含有することを特徴とする、メラノサイトとマクロファージが関与する皮膚現象対応用の皮膚外用剤。

(4) 化粧料であることを特徴とする、(3)に記載のメラノサイトとマクロファージが関与する皮膚現象対応用の皮膚外用剤。

(5) メラノサイトとマクロファージが関与する皮膚現象が、光による炎症を伴った、皮膚の黒化現象或いはソバカスである、(3)又は(4)に記載のメラノサイトとマクロファージが関与する皮膚現象対応用の皮膚外用剤。以下、本発明について、実施の形態を中心に詳細に説明を加える。

(6) ベルベリン及び／又は生理的に許容されるその塩を含有することを特徴とする、美白用の化粧料。

【0007】

【発明の実施の形態】(1) 本発明のメラノサイトのデンドライトの伸長抑制剤

本発明のメラノサイトのデンドライトの伸長抑制剤は、ベルベリン、ベルベリン誘導体、又は生理的に許容されるそれらの塩からなることを特徴とする。これらのベルベリン、ベルベリン誘導体はそのままでも塩と為しても使用することが出来る。塩としては、生理的に許容されるものであれば特段の限定無く使用することが出来、例えば、ナトリウムやカリウムなどのアルカリ金属塩、カルシウムやマグネシウムなどのアルカリ土類金属塩、アンモニウム塩、トリエタノールアミンやトリエチルアミンなどの有機アミン塩、リジンやアルギニンなどの塩基性アミノ酸塩などが好ましく例示できる。特に、ベルベリン誘導体としては、ベルベリン、タンニン酸ベルベリン、硫酸ベルベリン、塩化ベルベリン等は、入手し易さの面、又、医薬品として実績があり、市販されているので、これらを本発明のメラノサイトのデンドライトの伸長抑制剤として用いることが特に好ましい。又、これらベルベリン、ベルベリン酸誘導体及びそれらの生理的に許容される塩は何れも取り分け侵れたメラノサイトのデンドライトの伸長抑制作用を有する。本発明のメラノサイトのデンドライトの伸長抑制剤は唯1種を含有させることも出来るし、2種以上を組み合わせて含有させることも出来る。本発明のデンドライトの伸長抑制剤を組成物に含有させる場合、好ましい含有量は、0.001～10重量%であり、更に好ましくは0.01～5重量%である。本発明のメラノサイトのデンドライトの伸長抑制剤としては、実績のあるベルベリン、タンニン酸ベルベリン、硫酸ベルベリン、塩化ベルベリン等のベルベリンの塩類が特に好ましく例示でき、これら本発明のメラノサイトのデンドライトの伸長抑制剤は、メラノサイトがデンドライトを伸長するのを抑制する作用に優れ、以て、メラノサイトより皮膚組織へメラニン顆粒が移動するのを抑制し、この様なメラニン顆粒の移動をメカニズムとする、光照射時に生じる、炎症を伴った黒化やソバカスなどの色素異常を予防或いは改善する作用を有する。これ以外にもベルベリンのデスマチル体、デスマチルベルベリンの配糖体などの誘導体やそれらの塩もこの

様な作用を有しており、これらが本発明で言う誘導体及びその生理的に許容される塩である。この様な作用は、マクロファージが放出するメラノサイトのデンドライトの伸長因子がメラノサイトに働きかけるのを阻害することを機序としていると考えられる。勿論、色素異常が、メラニン顆粒の產生にあたってこの様なルートをとることから、本発明のメラノサイトのデンドライト伸長抑制剤は、光照射による炎症を伴った黒化やソバカス以外の色素異常も抑制するが、この様な色素異常は他の手段でも予防や改善が可能であるため、本発明の効果の特徴は前記の光照射時に生じる、炎症を伴った黒化やソバカスなどの色素異常を予防或いは改善する作用と言える。

又、通常のシミやソバカスなどの生成過程に於いても、メラノサイトとマクロファージが協調的に作用する場合があり、この様な場合にもベルベリン及び／又はその塩は有効に働くことがあるため、ベルベリンを含有させた化粧料を美白用の化粧料として用いることも出来る。

【0008】(2) 本発明のメラノサイトとマクロファージが関与する皮膚現象対応用の皮膚外用剤

20 本発明のメラノサイトのデンドライト伸長抑制剤は、マクロファージが放出するメラノサイトのデンドライトの伸長因子がメラノサイトに働きかけるのを阻害することを機序としているので、メラノサイトとマクロファージとが協調的に働く生命現象を抑制することが出来、この様なメラノサイトのデンドライト伸長抑制剤を、皮膚外用剤に含有させることにより、メラノサイトとマクロファージが関与する皮膚現象へ対応する事が出来る。即ち、本発明の皮膚外用剤は、メラノサイトとマクロファージが関与する皮膚現象対応用であって、本発明のメラノサイトのデンドライト伸長抑制剤を含有することを特徴とする。

ここで、本発明で言う皮膚外用剤とは、皮膚に外用で適用される組成物の総称であって、貼付剤を含む皮膚外用医薬や洗浄剤を含む化粧料が好ましく例示でき、これらの内では、化粧料であることが特に好ましい。これは、本発明のメラノサイトのデンドライト伸長抑制剤の安全性が高く、作用が穏やかであるためである。メラノサイトとマクロファージが関与する皮膚現象としては、特に好ましくは前述の光照射による炎症を伴った黒化やソバカスなどの色素異常がまず一番重要な課題として挙げられるが、その他炎症反応なども含まれる。本発明のメラノサイトとマクロファージが関与する皮膚現象対応用の皮膚外用剤に於ける、メラノサイトのデンドライト伸長抑制剤の好ましい含有量は、皮膚外用剤全量に対して、0.001重量%～10重量%であり、更に好ましくは、0.01重量%～5重量%である。これは、少なすぎるとデンドライトの伸長抑制作用が発揮されない場合があり、多すぎても効果が頭打ちになり他の処方成分の自由度を損なうことがあるからである。

40 50 【0009】本発明のメラノサイトとマクロファージが

関与する皮膚現象対応用の皮膚外用剤は、上記必須成分以外に、通常化粧料や皮膚外用医薬で使用される任意の成分を含有することが出来る。かかる任意成分としては、例えば、スクワラン、ワセリン、マイクロクリスタリンワックス等の炭化水素類、ホホバ油、カルナウバワックス、オレイン酸オクチルドデシル等のエステル類、オリーブ油、牛脂、椰子油等のトリグリセライド類、ステアリン酸、オレイン酸、リチノレイン酸等の脂肪酸、オレイルアルコール、ステアリルアルコール、オクチルドデカノール等の高級アルコール、スルホコハク酸エステルやポリオキシエチレンアルキル硫酸ナトリウム等のアニオン界面活性剤類、アルキルベタイン塩等の両性界面活性剤類、ジアルキルアンモニウム塩等のカチオン界面活性剤類、ソルビタン脂肪酸エステル、脂肪酸モノグリセライド、これらのポリオキシエチレン付加物、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレン脂肪酸エステル等の非イオン界面活性剤類、ポリエチレングリコール、グリセリン、1, 3-ブタンジオール等の多価アルコール類、増粘・ゲル化剤、酸化防止剤、紫外線吸収剤、色剤、防腐剤、粉体等を含有することができる。本発明のメラノサイトとマクロファージが関与する皮膚現象対応用の皮膚外用剤は、抗炎症剤として知られるプレドニゾロン、ヒドロコルチゾン、インドメタシン、ジクロフェナックナトリウム等を配合させれば相乗効果により日光による炎症を伴う黒化症に有意義である。勿論、従来のメラニン産生抑制剤である、アスコルビン酸類やアルブチンなどのハイドロキノン類を含有することも相乗的な効果を発揮する場合があり、有利である。

【0010】

【実施例】以下に実施例を挙げて更に詳細に本発明について説明を加えるが、本発明がこれら実施例にのみ、限定を受けないことは言うまでもない。

【0011】<実施例1>上記実施例1のメラノサイトのデンドライト伸長抑制剤を用いて、デンドライト伸長抑制作用を調べた。即ち、予め常法に従い、マウス腹腔より、マクロファージを回収し、10%FBS加イーグルの最少培地で希釈し、 2×10^6 セル/ m^2 の濃度のマクロファージ液を調整しておいた。このものを $90 \mu l$ ずつ 35 mm^2 シャーレに分注し、これに $0.05 \text{ mW}/\text{cm}^2$ で 20 分間の紫外線照射を行った。これらのメラノサイトのデンドライト伸長抑制剤であるベルベリン誘導体としては、ベルベリン、タンニン酸ベルベリン、硫酸ベルベリン、塩化ベルベリンを 0.001% となるよう $1, 3$ -ブチレングリコールに溶かして加え又、他方マウスの尾を切り、尾の表皮を細かく刻みシャーレに入れ 0.5% トリプシンにて 37°C で一晩処理し、ピンセットを用いて、表皮と真皮に分離し、表皮のみを回収*

ベルベリン

1, 3ブタンジオール

*し、 0.5% トリプシンにて 37°C で 20 分間処理し、フィルター汎過でメラノサイトのみを汎液として集めた。このメラノサイトを含む汎液を、イーグルの最少培地に 10% FBS、 $10-4\text{M}$ のIBMX及び $10 \text{ ng}/\text{ml}$ のTPAを加えた培地で、 37°C 、 48 時間培養した。これを同培地で懸濁させ、 96 穴ウェルに 1000 セル/ウェルずつ分注し、 37°C で一晩培養した。メラノサイトの培地を捨て、PBSで 3 回洗浄した後、 10% FBS加イーグルの最少培地 $35 \mu\text{l}$ に置換した。こ

れに前記検体を含むマクロファージの培養上清 $35 \mu\text{l}$ ずつ添加し、 37°C で二晩培養し、光学顕微鏡下写真撮影を行い、この写真よりデンドライトの長さを測定した。結果を表1に示す。これより、本発明のメラノサイトのデンドライト伸長抑制剤であるベルベリン誘導体である、ベルベリン、タンニン酸ベルベリン、硫酸ベルベリン、塩化ベルベリンによるデンドライト伸長の抑制作用に優れることが分かる。

(検体)

1) メラノサイトのデンドライト伸長抑制剤である

20 2) メラノサイトのデンドライト伸長抑制剤である

(0.001%) ベルベリン

3) メラノサイトのデンドライト伸長抑制剤である

(0.001%) 硫酸ベルベリン

4) メラノサイトのデンドライト伸長抑制剤である

(0.001%) 塩化ベルベリン

5) 1, 3-ブチレングリコール (ポジティブコントロール)

6) マクロファージ上清を加えない (ネガティブコントロール)

【0012】

【表1】

検体	デンドライトの長さ (μm)
ベルベリン	12.84
タンニン酸ベルベリン	15.26
硫酸ベルベリン	18.48
塩化ベルベリン	14.25
ネガティブコントロール	9.75
ポジティブコントロール	86.26

【0013】<実施例2>以下に示す処方で化粧水を作成した。即ち、処方成分を室温で攪拌可溶化して化粧水を得た。この化粧水について、シミ、そばかすに悩むパ

ネラー1群3名を用いて、1ヶ月間、朝晩1日2回使用してもらいそのシミ、そばかすの予防及び改善効果を評価してもらった。評価基準は、評点2:著しい改善、評点1:明らかな改善、評点0.5:わずかな改善、評点0:改善なしの基準である。平均評点は 0.79 であった。本発明のメラノサイトのデンドライトの伸長抑制効果のある甘松のエッセンスを含有する化粧水は、シミ、そばかすの改善に効果のあることが認められた。

1 重量部

5 重量部

7

グリセリン	3 重量部
クエン酸ナトリウム	0.1重量部
メチルパラベン	0.2重量部
エタノール	8 重量部
水	82.7重量部

【0014】<実施例3>下記に示す処方に従って、皮膚外用医薬組成物を作成した。即ち、処方成分を攪拌分散して、皮膚外用剤を得た。このものは光による炎症を*

*伴った、光による皮膚の黒化現象或いはソバカスに対して著効を示した。

ベルベリン	0.5重量部
プレドニゾロン	1 重量部
ワセリン	85 重量部

【0015】<実施例4>以下に示す処方に従ってクリームを作製した。即ち、イ、ロ、ハをそれぞれ80℃に加熱溶解して、イにロを徐々に加え、更にハを加え乳化した後、ホモミキサーにより乳化粒子を均一化し、冷却※

※してクリームを得た。このクリームは、炎症を伴うそばかす等に優れた効果があった。

【0016】

イ)	スクワラン	10 重量部
	セタノール	3 重量部
	ソルビタンセスキステアレート	2 重量部
	ポリオキシエチレン(20)ベヘニルエーテル	2 重量部
	ビタミンA酸	1 重量部
ロ)	1,3-ブタジオール	5 重量部
	ベルベリン	1 重量部
	カルボキシビニルポリマー	0.3 重量部
	水	40 重量部
ハ)	水	37.3 重量部
	水酸化カリウム	0.2 重量部

【0017】

【発明の効果】本発明によれば、炎症を伴った色素異常★ 善手段を提供することができる。

フロントページの続き

(51) Int. Cl. 7

// C07D 455/03

識別記号

F I

C07D 455/03

テーマコード(参考)

Fターム(参考) 4C064 AA14 CC02 DD01 EE03 FF01
 GG01
 4C083 AC012 AC022 AC072 AC102
 AC122 AC182 AC302 AC442
 AC482 AC851 AC852 AD092
 AD492 AD622 CC04 CC05
 DD31 EE16
 4C086 AA01 AA02 CB22 MA01 MA04
 MA63 NA14 ZA89 ZC41